



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN, TITULACIÓN Y GRADUACIÓN

**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL TRICLOSAN Y
CLOREXIDINA SOBRE EL *Streptococcus mutans* (ESTUDIO IN VITRO)**

**Proyecto de Investigación como Requisito para la Obtención del Grado Académico
de Odontóloga**

AUTORA: PRISCILLA VERÓNICA PELAEZ CRUZ

TUTOR DE TESIS: DR. ROBERTO ROMERO

QUITO – 2014

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a Dios por ser siempre mi guía y camino, y a mis padres por ser
una bendición en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a DIOS por permitirme lograr mis objetivos y estar siempre a mi lado, a mi familia, mis padres Roberto y Chony, por ser mi fortaleza, orgullo y apoyo en cada momento de mi vida, a mis hermanos Ingrid, Andrea, Roberto y María Rosa por siempre brindarme una palabra de aliento y ayuda, a Gustavo por formar parte de mi vida y ser mi compañía idónea.


A la Universidad Central Del Ecuador, a la Facultad de Odontología, por abrirme sus puertas y a cada Dr. que pudo aportar con sus conocimientos que permitió formarme como profesional, A mis amigos que a lo largo de mi carrera han compartido conmigo grandes momentos: Lore, Dani, Grachel, Cari, Marjo, Sergi, Vico, Eve, Edgar, Tefa, Andre.

Al Dr. Roberto Romero por su dedicación, conocimientos y ayuda para el presente estudio. A SAFEM LAB por la asesoría teórica y técnica necesaria.

AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL

Yo, Priscilla Verónica Peláez Cruz en calidad de autora del trabajo de investigación de tesis realizada sobre “**EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL TRICLOSAN Y CLOREXHDINA SOBRE EL *Streptococcus mutans* (ESTUDIO IN VITRO)**” por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autora me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido según los artículos 5, 6, 8, 19 y además pertinentes de la Ley de Prioridad Intelectual del Reglamento.

A handwritten signature in blue ink, reading "Priscilla Peláez", is positioned above a horizontal line.

Peláez Cruz Priscilla Verónica


C.I. 070287075-9

Correo: pvpc404@hotmail.es

DECLARACIÓN

Yo, Priscilla Verónica Peláez Cruz con C.I. 0702870759 declaro bajo juramento que el trabajo aquí escrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, según lo establecido por la ley de propiedad intelectual, por su reglamento y norma institucional vigente.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Priscilla Peláez', is written over a horizontal line.

Peláez Cruz Priscilla Verónica

C.I. 070287075-9

INFORME DE APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi carácter de Tutor del trabajo de Grado, presentado por la señorita Priscilla Verónica Peláez Cruz para optar el Título de Odontóloga, cuyo título es **“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL TRICLOSAN Y CLOREXHDINA SOBRE EL *Streptococcus mutans* (ESTUDIO IN VITRO)”**. Considero que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

En la ciudad de Quito a los 22 días del mes de octubre de 2014



Dr. Roberto Romero

C.I. 171433238-2

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita Priscilla Verónica Peláez Cruz, bajo mi supervisión.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'R. Romero', is written over a horizontal dotted line.

Dr. Roberto Romero

C.I. 171433238-2

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL

“Evaluación del efecto antimicrobiano del triclosan y clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* (estudio in vitro)”

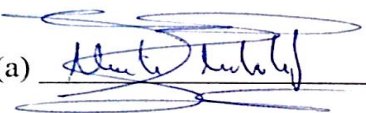
AUTOR: Priscilla Verónica Peláez Cruz

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

El presente trabajo de Investigación, luego de cumplir con todos los requerimientos normativos, en nombre de la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, FACULTAD DE ODONTOLOGÍA es aprobado; por lo tanto el jurado que se detalla a continuación, autoriza al postulante la presentación a efectos de la sustentación pública.


Quito, 22 de octubre del 2014

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. (a) 

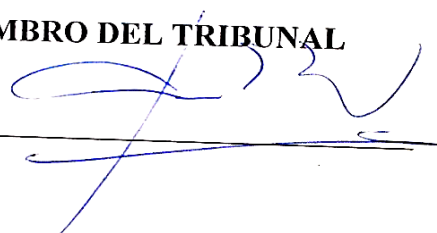
Dr. Wladimir Andrade

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. (a) 

Dr. Marcelo Cascante

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. (a) 

Dr. David Montero

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. (a) 

Dr. Jaime Luna

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
AUTORIZACIÓN DE LA AUTORÍA INTELECTUAL	iv
DECLARACIÓN	v
INFORME DE APROBACIÓN DEL TUTOR	vi
CERTIFICACIÓN	vii
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL	viii
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.....	xv
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
CAPITULO I	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.2 OBJETIVOS.....	3
1.2.1 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	3
1.4 HIPÓTESIS	4
CAPITULO II	5

2. MARCO TEORICO.....	5
2.1. CARIES DENTAL.....	5
2.1.1. ETIOLOGIA.....	6
2.2. BIOPELICULA.....	9
2.2.1. GENERO STREPTOCOCCUS	12
2.3. PROFILAXIS Y CUIDADO BUCAL.....	15
2.3.1. COLUTORIOS	16
CAPITULO III.....	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	22
3.2. UNIVERSO Y MUESTRA.....	22
3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	23
3.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	23
3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	24
3.4 ASPECTOS ETICOS	25
3.5 PROCEDIMIENTO	25
3.5.1. ACTIVACIÓN DE CEPAS DE <i>Streptococcus mutans</i>	25
3.5.2 ENSAYO DE ACTIVIDAD ANTI-STREPTOCOCCICA.....	27
3.5.3 GRUPOS DE ESTUDIO	29
3.5.4 MEDICIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO	29
CAPITULO IV.....	30

4. RESULTADOS.....	30
5. DISCUSIÓN	32
CAPITULO V	36
6. CONCLUSIONES	36
7. RECOMENDACIONES	37
8. BIBLIOGRAFÍA.....	38
9. ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1 Características de la muestra biológica de Streptococcus mutans con referencia ATCC 35668.....	42
ANEXO 2. Informe generado por el servicio de análisis documental de Urkund.....	44
ANEXOS 3. Tabla de resultados obtenidos.....	45

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1.....	6
Imagen 2.....	12
Imagen 3. Streptococcus mutans en medio de cultivo. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.....	14
Imagen 4.....	21
Imagen 5. Imagen 5. Muestra biológica. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.	25
Imagen 6. Colocación de la suspensión en 4ml de caldo TSB. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.....	26
Imagen 7. Colocación de discos de papel impregnados en triclosán 0.03%, clorhexidina 0.12%, etanol 70% y agua destilada. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.	28
Imagen 8. Cajas Petri de agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre.	28
Imagen 9. Resultados de la técnica de halos de inhibición para los antisépticos triclosán y clorhexidina. (A) Triclosán 0.03%, B) Clorhexidina 0.12%, C) Etanol 70%, D) Agua Destilada). Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.	30
Imagen 10. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento de S. mutans. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Variables	24
Tabla 2. Grupos de estudio.	29
Tabla 3. Prueba de Kruskal – Wallis para el experimento.....	31

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

“Evaluación del efecto antimicrobiano del triclosan y clorhexidina sobre el *Streptococcus mutans* (estudio in vitro)”

AUTOR: Priscilla Verónica Peláez Cruz

RESUMEN

Entendiendo que la caries dental se ha definido como una enfermedad multifactorial, en la cual actúan microorganismos específicos involucrados en su etiología, es necesario conocer e investigar el uso racional de agentes antimicrobianos locales en la odontología moderna, para de esta manera proporcionar un control de la infección más eficiente y localizada, y por consiguiente, obtener una disminución del riesgo cariogénico del paciente. Dentro de los antimicrobianos usados para el control de placa se han identificado los enjuagues bucales o colutorios, los cuales son soluciones hechas a base de agentes antisépticos, normalmente usados después del cepillado dental para favorecer la disminución de la cantidad de microorganismos causantes de caries. Es por esto que en el presente proyecto pretendemos evaluar el efecto antimicrobiano de dos principios activos de los colutorios: triclosán y clorhexidina, como tratamiento profiláctico ante una de las principales cepas causantes de la caries dental como el *Streptococcus mutans*; para lo cual se realizó un antibiograma en agar Muller Hinton enriquecido con 5% de sangre de cordero, para evaluar el efecto antibacteriano del triclosán al 0,03% y clorhexidina al 0.12%; obteniendo resultados favorables para este último con una media en sus halos de inhibición de 15,35 mm de diámetro.

Palabras Clave: Caries dental, *Streptococcus mutans*, triclosan, clorhexidina.

ABSTRACT

The dental cavity is defined as a multifactorial disease, and act specific microorganisms involved in its etiology, it is necessary to understand and investigate the rational use of local antimicrobial agents in modern dentistry, providing a control more efficient and localized infection, and reduce the cariogenic risk. The antimicrobials used for the control plaque, are mouthwashes or rinses, made from solutions antiseptic agents typically used after brushing to decrease the number of microorganisms cariogenic. In this project we intend to evaluate the antimicrobial effect of active ingredients of mouthwashes: chlorhexidine and triclosan, as a prophylactic treatment to one of the main causes of dental cavity; the *Streptococcus mutans* was performed an antibiogram in Muller Hinton agar supplemented with 5% sheep blood to assess the antibacterial effect of triclosan 0.03% and chlorhexidine 0.12%; favorable results for the latter with an average in their halo of inhibition 15.35 mm in diameter.

Keywords: Dental Cavity, *Streptococcus mutans*, Triclosan, Clorhexidine.

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

Para (Aguilera, 2011) la caries dental ha sido considerada una de las enfermedades infecciosas con mayor prevalencia en los seres humanos, estipulando dentro de los principales causantes al *Streptococcus mutans*, que produce ácidos aprovechando la presencia de carbohidratos para producir una desmineralización del esmalte. Esta especie ha sido considerada como principal agente causal para formación de caries dental, así como; la dieta, el huésped entre otros. La actividad cariogénica alta se ha visto relacionada con un incremento en la prevalencia de *Streptococcus mutans* en la saliva.

(Castro, 2005) mencionó que la enfermedad cariogénica es producida por bacterias determinadas, siendo así que se ha considerado al *Streptococcus mutans* como el principal agente etiológico, el cual forma parte de la microbiota de la placa dental.

Entendiendo que la caries dental se ha definido como una enfermedad multifactorial, en la cual actúan microorganismos específicos involucrados en su etiología, es necesario conocer e investigar el uso racional de agentes antimicrobianos locales en la odontología moderna, para de esta manera proporcionar un control de la infección, y por consiguiente, una disminución del riesgo cariogénico del paciente.

Dentro de los antimicrobianos usados para el control de placa se han identificado los enjuagues bucales o colutorios , los cuales son soluciones hechas a base de agentes

antisépticos, usados después del cepillado dental para favorecer la disminución de la cantidad de microorganismos causantes de caries (Aguilera *et al*, 2011).

Es por esto que en el presente proyecto de tesis pretendemos evaluar el efecto antimicrobiano de dos principios activos de los colutorios: triclosán y clorhexidina, como tratamiento profiláctico ante una de las principales cepas causantes de la caries dental como el *Streptococcus mutans*.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

(Graciano, 2012) mencionó que dentro de las enfermedades crónicas, las bucales son las más usuales; la importancia de éstas en la salud pública se debe a la prevalencia, impacto individual y social; y los costos para su tratamiento una vez establecido el problema. La etiología multifactorial de esta enfermedad ha sido tema de diversas investigaciones que plantean que el desarrollo de caries dental se debe, entre otras causas, a la presencia de microorganismos cariogénicos en la cavidad bucal. *Streptococcus mutans* ha ocupado el interés de muchos investigadores desde épocas remotas (Graciano *et al*, 2012).

Por tanto, ¿Es influyente en la prevención contra la actividad microbiana de *Streptococcus mutans* el uso de principios activos de los colutorio: triclosán, clorhexidina?

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antimicrobiano de dos principios activos: Triclosán y Clorhexidina, utilizados en colutorios como tratamiento antiplaca principalmente sobre el *Streptococcus mutans*.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto antimicrobiano de la Clorhexidina sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 cultivado in vitro.

Evaluar el efecto antimicrobiano del Triclosán sobre *Streptococcus mutans*.

Comparar el efecto antimicrobiano de triclosán y clorhexidina como coadyuvantes en la higiene bucal

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Los métodos utilizados por instituciones y directivas de salud pública en la prevención y control de la caries dental no han sido eficaces para obtener una disminución significativa de esta enfermedad, haciendo del control microbiológico aplicado en la prevención de enfermedades infecciosas una posibilidad terapéutica hipotética.

Sin embargo, con el presente proyecto de investigación surge de la inquietud por conocer si el uso de principios activos antiplaca bacteriana ofrecen una medida profiláctica ante una de las principales cepas causantes de la caries dental como el *Streptococcus mutans*.

Con este trabajo de investigación se busca despertar el interés por parte de los alumnos, docentes, a que se preocupen en el futuro éxito que podría tener una importante estrategia en la solución de problemas odontológicos, específicamente en la caries dental con el uso de agentes antimicrobianos como el triclosán y la clorhexidina.

1.4 HIPÓTESIS

Los principios activos de un colutorio: Triclosán y Clorhexidina, tienen efectos antimicrobianos ante el *Streptococcus mutans*.

CAPITULO II

2. MARCO TEORICO

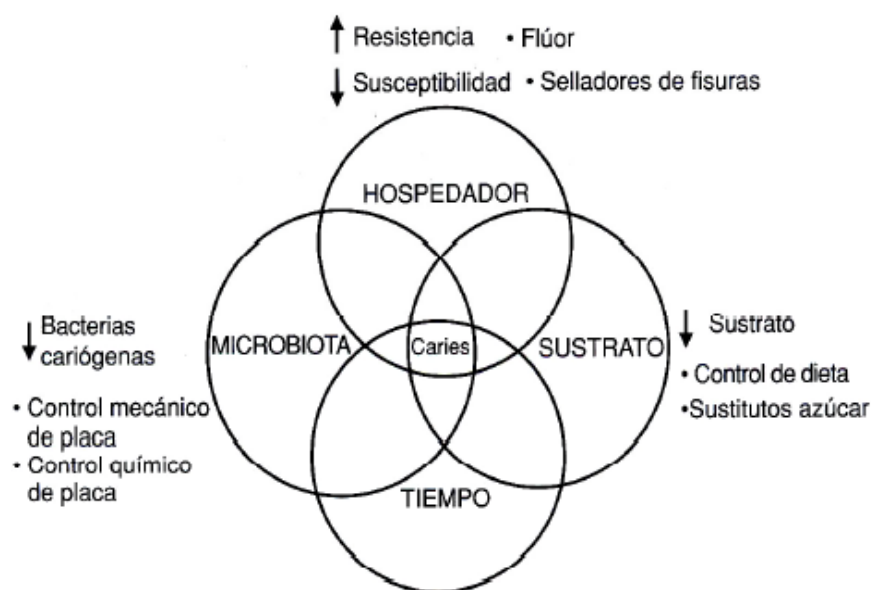
2.1. CARIES DENTAL

Según (Seif, 1997) la caries dental es una de las enfermedades infecciosas de mayor prevalencia en el hombre y continua manteniéndose como una de las principales problemas de salud pública a nivel mundial, además; (Silverstone, 1985) afirma que ésta se caracteriza por la degradación o ruptura de los dientes; la cual va a provocar una destrucción progresiva del esmalte, dentina y cemento que comienza a partir de la actividad microbiana en la superficie del diente. Así mismo, (Negroni, 2009) sostuvo que la caries dental es una enfermedad compleja, transmisible y multifactorial, en la que intervienen factores biológicos, socioeconómicos y culturales provocando el establecimiento y desarrollo de microorganismos cariogénicos que conformaran la biopelícula dental.

Las áreas más susceptibles son aquellas que no están protegidas por la autolimpieza, como pueden ser: fosas, fisuras y puntos de contacto. La caries dental va a producir la desmineralización progresiva de los tejidos duros de las piezas dentales, el resultado de esta, será una lesión, provocada por la disolución del esmalte y una remoción de iones calcio y fosfato, siendo esta primera etapa reversible a partir de la remineralización provocada principalmente por la presencia de fluoruros (Seif, 1997).

2.1.1. ETIOLOGIA

(Negroni, 2009) afirmó que existen tres factores determinantes en la formación de caries que representan la triada de Keyes: un factor “microorganismo” que frente a un factor “sustrato” consigue afectar a un tercer factor “hospedador” (diente). Además argumenta que necesita transcurrir un periodo considerable para la formación de procesos cariosos, por lo que se agrega al tiempo como parte de dichos factores de riesgo. Nominándolos como modificadores externos e internos del proceso cariogénico el cual surge debido al desequilibrio fisiológico entre el mineral de piezas dentarias y los componentes de la biopelícula.



1

Imagen 1.

Fuente: (Liébana, 2008).

¹ Factores que intervienen en la génesis de caries y su prevención

(Castro, 2005) evidenció que la placa dental podría ser un prerequisite indispensable para dar origen a la caries dental, la teoría quimioparasitaria (acidogénica) refiere que la caries inicia a partir de ácidos (principalmente ácido láctico), producido por microorganismos bucales a consecuencia de la fermentación de los carbohidratos de la dieta provocando una serie de cambios que ocurren por el desequilibrio iónico en el proceso de desmineralización y mineralización de los tejidos duros del diente.

De acuerdo a (Ketterl, 1994) la ingesta elevada de azúcares en la dieta, provocará un excesivo crecimiento bacteriano, así como, una hiperactividad metabólica de dichas bacterias que consecuentemente darán lugar a la desmineralización cariogénica de las piezas dentarias, estos microorganismos pueden crecer en superficies dentarias, formar ácidos y sintetizar polisacáridos a partir de los azúcares, así como, tolerar elevadas concentraciones de ácidos; casi todas las especies de microorganismos encontrados en la cavidad oral del ser humano reúnen una o más de estas características.

(Shafer, 1986) argumentó que existen grupos de microorganismos predominantes dentro de la placa dental siendo estos los estreptococos (*S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitior*, *S. milleri* y *S. Salivarius*), actinomicetes (*A. viscosus*, *A. naeslundii*, *A. israelii* y *Rothia dentocariosa*) y *Veillonellae* (*V. parvula*, *V. alcalescens*), considerando al *Streptococcus mutans* como el factor etiológico principal en la caries dental.

Se propusieron dos hipótesis básicas, según (Castro, 2005) acerca de la patogenia de la caries. La hipótesis de placa inespecífica, reconoce la presencia universal de microorganismos potencialmente patógenos en la placa bacteriana y afirma que todos los

depósitos de éste son patógenos, considerando así a todos los individuos portadores de la enfermedad cariogénica, requiriendo eliminar por completo la placa dental de los mismos, haciéndola una hipótesis poco realista lo que provocó que en los años sesenta comenzara a ser cuestionada.

La segunda hipótesis (Hipótesis de placa específica) propuesta por (Castro, 2005) argumenta que la placa bacteriana es patógena únicamente cuando se presentan signos de enfermedad sin estar acompañada de alteraciones de esmalte dental, de modo que existen pocas bacterias potencialmente cariogénicas, y el resto de estas que podemos encontrar, estarían en equilibrio con el huésped; su tratamiento se basa en eliminar la placa cariogénica parcialmente, teniendo como resultado placa libre de microorganismos patógenos específicos a partir de medidas antibacterianas ya sea desbridamiento mecánico o utilización de productos químicos con la capacidad de lograr esterilidad en la superficie de la pieza dentaria.

Así mismo (Ketterl, 1994) sostuvo que los microorganismos potencialmente cariogénicos crecen ilimitadamente mediante secreciones de saliva y moco (constituido fundamentalmente por glicoproteínas), además de líquido fisiológico del surco gingival. Sin embargo, la abundante ingesta de azúcares altera el equilibrio normal y provoca un daño en el huésped. Al existir un incremento en el aporte de sustratos esto favorece al aumento de acumulaciones bacterianas conocida como placa dental.

2.2. BIOPELICULA

De acuerdo a (Henostroza, 2007) en el hábitat de la cavidad bucal podemos encontrar una de las más variadas y concentradas agrupaciones microbianas en el organismo, constituidas por más de mil especies y cada una de estas conformadas por una gran variedad de cepas, siendo así que en un mm^3 de biopelícula se estima la presencia de 10^8 microorganismos.

Conforme a (Oliva, 2006) la placa dental es una agrupación microbiana que vamos a encontrar sobre la superficie dentaria, dando lugar a la biopelícula junto a una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival. Localizada en la cavidad bucal de individuos sanos y enfermos, siendo el agente etiológico de dos de las enfermedades orales más prevalentes: la caries dental y la enfermedad periodontal.

(Perez, 2005) mencionó que dentro de la cavidad oral podemos encontrar determinantes que influyen en la colonización de diferentes microorganismos que favorecen a la formación del biofilm, como por ejemplo una temperatura ideal de $35\text{-}36^\circ\text{C}$ y un rango de pH de 6,75 - 7,25; la saliva que se encuentra continuamente humedeciendo esta cavidad, pese de sus propiedades de amortiguación y remineralización del esmalte, sus componentes orgánicos, tales como: glicoproteínas y proteínas; va a favorecer a la adhesión de ciertos organismos a partir de una película selectiva acondicionadora sobre la superficie del esmalte.

(Oliva, 2006) afirmó que las bacterias que conforman la biopelícula dental se encuentran en una matriz que no llega a actuar como barrera propiamente dicha, pero logra retardar la difusión del agente antimicrobiano. Además las enzimas que segregan las bacterias al espacio extracelular tales como: β - lactamasas, formaldehído deshidrogenasa, entre otros, pueden

provocar el fracaso de ciertos antibióticos. La complejidad de la biopelícula bucal está determinada por la particular composición de las diferentes superficies en las cuales se va a desarrollar, dando lugar a cuatro nichos orales: mucosa masticatoria, dorso lingual, saliva y superficies duras tanto en superficies de piezas dentarias como materiales de restauración.

(Negroni, 2009) sostuvo que los grupos bacterianos constituyentes de la biopelícula van a organizarse con ayuda del transporte de sustratos, productos de desecho y moléculas. La matriz que sostiene dicha biopelícula está constituida por polisacáridos, proteínas y ADN secretado por las células, los cuales permiten que el biofilm actúe como un sistema. El equilibrio fisiológico que existe entre las piezas dentarias y la biopelícula puede fluctuar dependiendo de las condiciones del medio bucal, un pH bajo (causado por la fermentación de carbohidratos) va a asistir en la selección de cepas acidógenas y acidúricas tales como los estreptococos del grupo mutans: *S. mutans*, *S. sobrinus* y lactobacilos.

Así mismo, (Willey, 2009) determinó que existe una defensa natural del diente humano contra la colonización bacteriana, que logra complementar el papel protector de la saliva. De tal manera que, se forma una capa membranosa sobre la superficie dura del esmalte, el cual va a absorber selectivamente glicoproteínas ácidas (mucinas) de la saliva, dicha capa se denomina película adquirida del esmalte, estando constituida por muchos grupos sulfatos y carboxilatos que al otorgar una carga neta negativa provocara una repulsión entre la superficie dentaria y las bacterias que en su mayoría poseen carga negativa; este mecanismo de defensa se ve afectado en el momento en que se forma la placa dental.

(Shafer, 1986) definió a la película adquirida como una glicoproteína derivada de la saliva la cual va a ser absorbida por la superficies dentales, se forma antes o durante la colonización bacteriana y puede facilitar la formación de placa dental.

(Willey, 2009) mencionó que la formación de la placa dental comienza a partir de la colonización de la película adquirida, mediante interacciones iónicas, hidrofóbicas y de tipo lectina específica, por *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus mitis*, lo que da lugar a un reconocimiento celular entre bacterias genéticamente distintas (coagregación), permitiendo que bacterias como *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* y *Streptococcus gordonii* colonicen la película, proporcionándose un microambiente que permite la adhesión de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, estableciéndose así el ecosistema microbiano de la placa dental.

(Henostroza, 2007) afirmó la capacidad cariogénica de una bacteria va a estar ligada con su habilidad de crecimiento y formación de ácido a bajos niveles de pH, conocida como propiedad acidogénica, el pH idóneo para la disolución de los tejidos dentales (pH cítrico), varía entre 5.3 y 5.7 en esmalte y 6.5 a 6.7 en dentina, bacterias como *S. mutans* y *Lactobacillus* alcanzan un mayor crecimiento bajo estas condiciones a comparación de otros microorganismos que conforman el biofilm dental.

(Willey, 2009) mencionó que al haberse establecido el ecosistema microbiano de la placa dental, las bacterias comienzan a producir ácido láctico, acético y fórmico por medio de la sacarosa y otros azúcares; debido a que la placa dental no es permeable a la saliva, estos ácidos no se neutralizan, provocando la desmineralización del esmalte dando lugar a la caries dental.

Liébana (2008) consideró a la cavidad bucal como un conjunto de ecosistemas en la que podemos encontrar diversos microorganismos que se relacionan entre sí en un medio específico, señala además que, la microbiota normal es beneficiosa de tal manera que evita la colonización de microorganismos patógenos. A pesar de que existen señales moleculares entre el huésped y la microbiota para mantener un equilibrio puede producirse una disbiosis teniendo como consecuencia la patología oral.

2.2.1.GENERO STREPTOCOCCUS

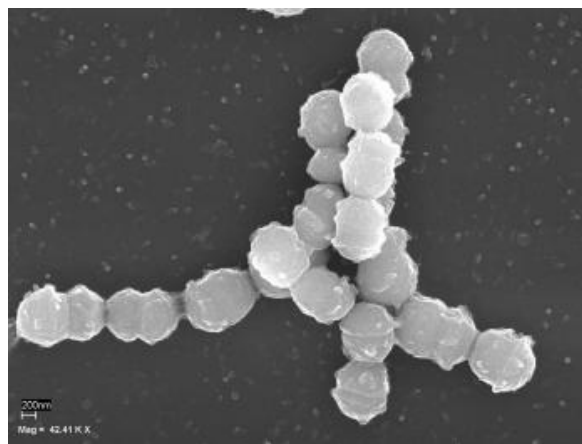


Imagen 2.

Fuente: (Liébana, 2008)

(Liébana, 1995) mencionó que los *Streptococcus* representan un extenso grupo de microorganismos; unos pertenecen a la microbiota normal, es decir, no muestran patogenicidad, mientras que, otros poseen un comportamiento saprofita, comensal y son los principales causantes de diferentes infecciones en el hombre y animales, producto de su

² Microscopia electrónica de estreptococos orales.

patogenicidad, son cocos Gram positivos, dentro de su metabolismo carecen de catalasa y son anaerobios facultativos; cuando crecen en presencia de oxígeno, su desarrollo se va a favorecer en una atmósfera del 5 – 10 % de CO₂.

(Freeman, 1989) definió a los estreptococos como células esféricas, su diámetro va a depender del ambiente en el que se encuentren, siendo lo normal entre 0.8 y 1.0 µm. Se presenta en forma de cadenas debido a la fisión binaria en planos paralelos que confrontan los streptococcus quedando fusionados. (Candray, 2011) mencionó que los estreptococos son cocos Gram positivos, pueden estar agrupados en cadenas o en pares, son inmóviles y no esporulados, representan el mayor número de bacterias dentro de la cavidad bucal, constituyen el 20 al 30% del total de las bacterias dentro de los cultivos.

(Liébana, 1995) Su tolerancia al oxígeno se debe a la presencia de peroxidasas flavínicas y pseudocatalasas; la carencia de éstas, y la acción de los peroxisomas de ciertas especies, genera un efecto tóxico que se puede evitar añadiendo sangre en los medios de cultivo, cuya enzima catalasa desdoblaría el peróxido de hidrógeno. La temperatura óptima para su desarrollo es de 36±1 °C. El metabolismo se caracteriza por ser fermentativo, produciendo abundante cantidad de ácido que disminuye el pH, lo que obliga a utilizar medios de cultivo con sustancias amortiguadoras para evitar su muerte.

(Gay, 2011) propuso su clasificación mediante tres criterios: Según su actividad hemolítica en agar-sangre en los que podemos observar estreptococos α (también denominados verdes), estreptococos β y estreptococos γ (no hemolíticos); según sus características inmunológicas, en el que podemos distinguir 13 grupos (A-O), de acuerdo a

las características antígenas presentes en su pared celular y por ultimo según su actividad fisiológica, en la que encontramos a los grupos piogénico, viridans, enterocócico y láctico. Siendo de importancia el grupo viridans que a su vez está constituido por los grupos: mutans, oralis, salivarius y milleri.

2.1.1.1. STREPTOCOCCUS MUTANS

(Sieber, 2012) definió a los estreptococos mutans como una especie Gram positiva, perteneciente a la familia bacteriana cocácea, se agrupa en cadenas, su crecimiento es propiciado a partir de ambientes de microaerofilia o anaerobiosis (CO₂ al 10%), así como medios de cultivo enriquecidos. Presenta polisacáridos antigénicos del grupo mutans c, e y f, predominando en la cavidad bucal en el hombre, el serotipo c. Considerada como principal patógeno en primeras etapas de lesión cariosa frente a otras especies acidogénicas encontradas en placa supragingival.

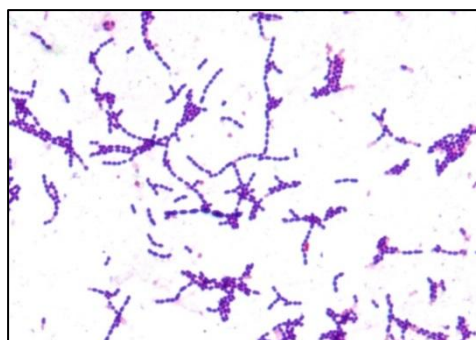


Imagen 3. Streptococcus mutans en medio de cultivo. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.

(Liébana, 1995) mencionó que su unión a la biopelícula es mediada por proteínas parietales que posee en su superficie y estas al liberarse al medio en el curso de crecimiento bacteriano poseen una acción adhesiva, además favorecería la coagregación con otras bacterias por aumento salival. En las piezas dentales va a producir lesión cariosa en superficies lisas (fosas y fisuras), zonas interproximales y cemento radicular.

(Shafer, 1986) reconoció al *Streptococcus mutans* como la principal cepa altamente acidógena y cariogénica dentro del grupo de los estreptococos, teniendo la capacidad de metabolizar sacarosa dietética y de sintetizar glucano, por medio de la glucosiltransferasa superficial y extracelular, de tal manera que esta enzima otorga al *S. mutans* su establecimiento en la placa dental, la glucosiltransferasa con ayuda de la sucrosa extracelular va a sintetizar al glucano que se encuentra en la superficie celular de la bacteria, el glucano se lo reconoce como un gel insoluble, viscoso que permite que la bacteria se adhiera fuertemente en la superficie dental otorgando también protección contra la difusión de amortiguadores salivales.

2.3. PROFILAXIS Y CUIDADO BUCAL

(Seif, 1997) afirmó que la placa bacteriana participa de manera directa en la formación de la lesión cariosa, por lo tanto, la adecuada eliminación de esta mecánicamente (cepillado e hilo dental) han sido de importancia para controlar la formación de biopelícula bacteriana, así mismo, se utilizan sustancias antisépticas como control químico para obtener efectos anticaries. Estas sustancias quimioterapéuticas han sido estudiadas a lo largo de los años determinando su efectividad para ser utilizadas en dentífricos y colutorios.

Conforme a (Farmacia, 2001) posterior al cepillado dental con dentífricos es recomendado complementar su acción antiplaca con el uso de colutorios, estos deben ser atóxicos, no sensibilizantes, de fácil conservación y uso así como ofrecer sensación de frescor en la cavidad bucal. Al no realizar una adecuada y rigurosa higiene, los microorganismos que se encuentran en la placa dental provocarán la lesión cariosa pudiendo avanzar y producir la destrucción de la pieza dentaria.

2.3.1. COLUTORIOS

(Enrile, 2005) mencionó que los colutorios son usados como coadyuvantes para métodos mecánicos anti placa dental, se ha sugerido el empleo de agentes quimioterapéuticos, los cuales deben ser utilizados de acuerdo a características específicas de cada paciente, de tal manera que, se logre prevenir la aparición de la enfermedad cariogénica y periodontal controlando la cantidad de placa supra y subgingival, los colutorios deben poseer la capacidad de penetrar el biofilm bacteriano. Además Seif (1997) sostuvo que su acción va a ser más efectiva supra gingivalmente, y tan solo de 1 a 2 mm en placa subgingival.

(Bascones, 2006) afirmó que las sustancias químicas utilizadas en colutorios actúan de manera cuantitativa y cualitativa impidiendo la adherencia bacteriana (con anti adhesivos), deteniendo o retardando la proliferación bacteriana (con antimicrobianos), erradicando placa establecida (cepillo dental químico), alterando la producción de placa dental.

(Aguilera, 2011) reconoció a la caries como una enfermedad multifactorial en la que interactúan microorganismos específicos nos posibilita la aplicación de antimicrobianos de forma local, permitiendo el control de la infección y así la aparición de enfermedad cariogénica del paciente. Los enjuagues bucales son parte de los antimicrobianos para control de placa, utilizados posterior al cepillado dental, definidos como soluciones realizadas a partir de antisépticos capaces de reducir bacterias cariogénicas además de eliminar la halitosis.

2.3.1.1. TRICLOSAN

El triclosán fue definido por (Serrano, 2006) como un antibacteriano bisfenólico no iónico, (Seif, 1997) argumentó que es un antibacteriano de amplio espectro, efectivo contra microorganismos Gram positivos y Gram negativos sin producir efectos colaterales. Conforme a (Candray, 2011) el Triclosán (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol), se presenta como un sólido incoloro en condiciones normales, con ligero olor a fenol, compuesto aromático clorado con grupos funcionales de éteres y fenoles, posee acción antiinflamatoria, además es un antibacteriano con alta sustantividad y fungicida, no presenta efectos secundarios y puede ser utilizado diariamente ya que no se han evidenciado resistencias.

(Aguilera, 2011) mencionó que el triclosán es un derivado fenólico con propiedades antisépticas cuyo mecanismo de acción permite la difusión del producto a través de la membrana citoplasma para inhibir la síntesis de ARN, lo cual conlleva a una acción bactericida de amplio espectro, en dosis menores su efecto es bacteriostático. (Ciancio, 2010) argumentó que el principal sitio de acción del triclosán es la membrana bacteriana, provocando efectos bacteriostáticos inhibiendo la captación de aminoácidos y efectos

bactericidas de manera que causa desorganización de la membrana citoplasmática además de difusión de contenido intracelular.

(Serrano, 2006) afirmó que el triclosán se puede utilizar junto al citrato de zinc, lo cual produciría un aumento de su actividad antimicrobiana, así como al PVM/MA (copolímero éter polivinilmetílico del ácido maleico), aumentando la retención del antiséptico, además argumentó que como colutorio al 0.03% asociado a copolímeros se ha demostrado sus propiedades como agente contra la placa dental.

De acuerdo a (Seif, 1997) el triclosán es considerado un inhibidor de las enzimas ciclooxigenasa, lipoxigenasa y de la liberación de prostaglandinas (PGE2) e interleukina 1 Beta (IL- Beta) de los fibroblastos estimulados; los niveles de producción de esta última en los tejidos gingivales está relacionada con la inflamación de estos tejidos además se ha evidenciado que el triclosán posee un efecto analgésico debido a que actúa a nivel de transmisión neuromuscular.

(Ciancio, 2010) mencionó que este antiséptico es favorable al adicionarlo a productos orales ya que posee un efecto antibacteriano de amplio espectro, además resulta compatible con sus ingredientes, considerado seguro utilizado en dentífricos y colutorios.

2.3.1.2. CLORHEXIDINA

De acuerdo a (Tripathi, 2008) la clorhexidina es un antiséptico catiónico poderoso cuya acción consiste en romper la membrana celular de las bacterias, produciendo además la desnaturalización de proteínas intracelulares. Es considerado un antiséptico muy eficaz contra placa dental. (Candray, 2011) mencionó que la clorhexidina se une a la membrana celular de las bacterias, provocando que en bajas concentraciones se produzca una permeabilidad y difusión del contenido intracelular (efecto bacteriostático), en altas concentraciones produce la precipitación del citoplasma de las bacterias junto con la muerte celular (efecto bactericida).

Según (Morante, 2003) la clorhexidina es efectiva contra microorganismos Gram positivos, Gram negativos y hongos, de los cuales las bacterias Gram positivas tienen mayor sensibilidad a comparación bacterias Gram negativas, así mismo, las bacterias del género streptococcus a son más sensibles que el género estafilococos.

(Serrano, 2006) mencionó que existen mecanismos antiplaca en los que interviene la clorhexidina, de manera que se une a la superficie del diente mediante un catión de su molécula, dejando otros cationes libres los cuales van a interactuar con bacterias que intentan colonizar y adherirse a la superficie dental, así mismo se va a adherir a glicoproteínas salivales impidiendo la formación de película adquirida y consecuentemente la placa dental.

(Seif, 1997) definió a este antiséptico como una especie básica pero que se mantiene estable en su forma salina, usualmente es preparada como digluconato de clorhexidina, siendo soluble a un pH fisiológico de 7.4 ± 0.2 , que al disociarse de forma rápida libera su carga positiva. Se ha determinado en estudios que la clorhexidina altera el equilibrio osmótico de las células, adhiriendo su molécula catiónica a complejos microbianos y paredes bacterianas con carga negativa. Tiene la capacidad de adherirse a sustratos aniónicos como hidroxiapatita en el esmalte dental, glicoproteínas salivales, película adquirida y membranas mucosas; que de facilitan su efecto antiplaca.

La clorhexidina fue definida por (Candray, 2011) como un dímero de proguanil (biguanida), que presenta grupos hidrófilos e hidrófobos, estructurada por dos anillos simétricos (4-clorofenil y dos grupos biguanidas conectados por una cadena central de hexamentileno); su pH óptimo oscila entre 5.5 y 7 siendo activa para bacterias Gram positivas y Gram negativas con un pH entre 5.0 y 8.0. Se absorbe rápidamente en boca y ejerce su acción por más de doce horas, inclusive en superficies con película adquirida, y dependiendo la dosis puede tener efecto bacteriostático o bactericida.

Según (Morante, 2003) la clorhexidina absorbida se va a liberar a partir de 8 a 12 horas, de forma progresiva en su forma activa, pasadas las 24 horas aún se puede encontrar pequeñas dosis de este antiséptico imposibilitando la colonización de bacterias. (Serrano, 2006) acotó que este antiséptico se une a los tejidos bucales de forma reversible, y al liberarse de manera lenta, sus efectos antimicrobianos se pueden manifestar por varias horas.

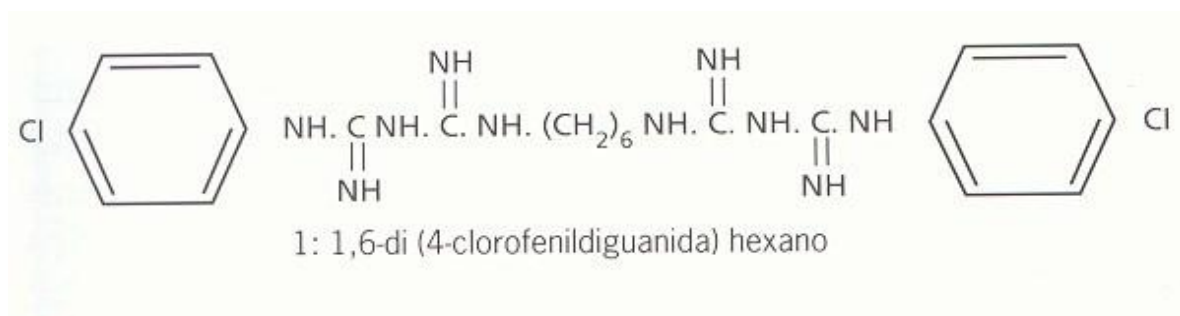


Imagen 4.

Fuente: (Morante, 2003)

3

Según (Candray, 2011) la clorhexidina es utilizada en el campo odontológico como componente de colutorios a concentraciones de “0,1%, 0,2% y 0,12%”, dentífricos usan a concentraciones de “0,05%, 0,2% y 0,12%”, geles se usa a “0,2%, 0,12% y 1%”, spray es utilizado a concentraciones de “0,1% y 0,2%”, y barnices al “1%”. Puede causar tinción en dientes y lengua (mayor efecto en pacientes que beben vino, café, té y que sean fumadores), también se percibe sabor amargo o metalizado así como posibles descamaciones en la mucosa bucal, dependiendo de la concentración en que se utilice este antiséptico.

(Morante, 2003) mencionó que estudios han demostrado que transcurrido un periodo de seis meses utilizando este antiséptico, los microorganismos formadores de placa dental comienzan a demostrar una baja sensibilidad al mismo, produciendo una nueva colonización bacteriana y formación de biofilm, sin embargo, no se evidencia una resistencia ya que descontinuar su uso las bacterias recobran la sensibilidad que presentaban en un inicio.

³ Estructura química de la Clorhexidina

CAPITULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Transversal: El presente estudio se realizó durante un periodo de tiempo determinado: Abril 2014- Julio 2014

Comparativo: Se evaluó si existe diferencia significativa entre los agentes antimicrobianos (Triclosán y Clorhexidina) utilizados para el control de *S. mutans*.

Experimental: Las variables fueron sometidas a una manipulación en condiciones controladas, y posteriormente se describió las causas por las que se producen los resultados.

3.2. UNIVERSO Y MUESTRA

El efecto antimicrobiano de los agentes en estudio, fue evaluado a partir de una unidad de sedimento liofilizado de *Streptococcus mutans* con referencia ATCC 35668, en 20 unidades experimentales (cajas Petri con Agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de cordero).

3.2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Cepas puras de *Streptococcus mutans*.

Solución de Triclosán al 0.03%.

Solución de Gluconato de Clorhexidina al 0.12%.

3.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Cepas de *Streptococcus* que no pertenezcan al grupo viridans

Solución de triclosán que difiera de 0.03%.

Solución de gluconato de Clorhexidina que no corresponda al 0.12%

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 1. Variables

Variables	Conceptualización	Determinantes	Indicador	Escala
Antisépticos	Gluconato de Clorhexidina	<p>Antiséptico utilizado para la disminución de formación de película adquirida y altera el desarrollo bacteriano</p> <p>Concentración: 0.12%</p> <p>Cantidad: 20UI (microlitros)</p> <p>Tiempo: 48 h</p> <p>Temperatura del ambiente: 35°</p> <p>Presión de oxígeno: microaerofilia</p>	Halos de inhibición	milímetros
	Triclosán	<p>Es un derivado fenólico, de acción antibacteriana y antiinflamatoria.</p> <p>Concentración: 0.03%</p> <p>Cantidad: 20UI</p> <p>Tiempo: 48h</p> <p>Temperatura del ambiente: 35°</p> <p>Presión de oxígeno: microaerofilia</p>	Halos de inhibición	milímetros

3.4 ASPECTOS ETICOS

Por la manera de obtención de la muestra biológica y al ser un estudio in vitro, el presente proyecto no requiere ser sometido al comité de ética de la Universidad Central del Ecuador.

3.5 PROCEDIMIENTO

3.5.1. ACTIVACIÓN DE CEPAS DE *Streptococcus mutans*

La muestra de *Streptococcus mutans* con referencia ATCC 35668, fue adquirida comercialmente a través del laboratorio MEDIBAC, en estado liofilizado, mantenida en baja temperatura. (Imagen 5).



Imagen 5. Muestra biológica. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador,

2014.

Se colocó 1 ml de caldo nutritivo, TSB (Tryptip Soy Broth), para resuspender la cepa microbiana en el vial. La suspensión fue luego pipeteada en 4mL de caldo TSB para enriquecer y rehidratar al microorganismo (Imagen 6).

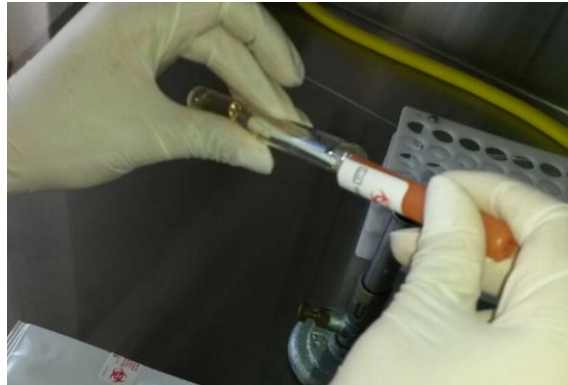


Imagen 6. Colocación de la suspensión en 4ml de caldo TSB. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.

La suspensión fue inoculada en cajas de agar sangre de cordero 5%, realizando un hisopado, para aislamiento de colonias con la técnica de agotamiento por estrías y mediante la técnica de sembrado por extensión que consistió en colocar 1 ml de la suspensión, para extender la misma con ayuda de un asa bacteriológica.

Adicionalmente, 1mL de la suspensión fue inoculado en caldo TSB suplementado con 5% de sangre de cordero para facilitar el crecimiento del microorganismo para posteriores ensayos. Las condiciones de incubación fueron temperatura de 35°C y atmósfera de 5% de CO₂ durante 48 horas.

3.5.2 ENSAYO DE ACTIVIDAD ANTI-STREPTOCOCCICA

Una vez observado el crecimiento en colonias puras, el microorganismo fue diluido hasta que su turbidez fue visualmente comparada con una suspensión preparada previamente de sulfato de bario que corresponde al estándar 0.5 de la escala de McFarland.

Esta solución fue inoculada con hisopos estériles en cajas de agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre obtenido comercialmente (SAFEM-LAB). La técnica de inoculación fue el hisopado en superficie completa, de forma que exista un crecimiento uniforme del microorganismo y se pueda establecer el efecto de los antisépticos en el ensayo.

Se colocaron cuatro discos de papel filtro estériles de ¼ de pulgada en cada caja Petri, cada uno de ellos impregnados con 20 µl (microlitros) de: clorhexidina al 0.12% (G1), triclosán al 0.03% (G2), y como control se utilizó un disco impregnado en agua destilada estéril (G3) que se utilizó para la disolución de la Clorhexidina y un cuarto disco con alcohol al 70% (G4) el cual se utilizó para la disolución del Triclosán por ser este un compuesto hidrófobo. Los controles fueron colocados con la finalidad de evaluar si estos poseían una acción antimicrobiana coadyuvante para el efecto que pudieran producir los antisépticos.



Imagen 7. Colocación de discos de papel impregnados en triclosán 0.03%, clorhexidina 0.12%, etanol 70% y agua destilada. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.

Las concentraciones de clorhexidina y triclosán son las que se encuentran en colutorios a nivel comercial. Las placas fueron incubadas en una estufa a 35°C en condiciones de baja presión de oxígeno durante 48 horas realizándose 20 repeticiones del experimento.



Imagen 8. Cajas Petri de agar Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre.

3.5.3 GRUPOS DE ESTUDIO

Tabla 2. Grupos de estudio.

Bacteria	Soluciones	Clorhexidina	Triclosán	Agua destilada	Alcohol 70%
<i>Streptococcus mutans</i>		G1	G2	G3	G4

3.5.4 MEDICIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO

La medición del efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* se determinó a través de la técnica de halos de inhibición, que se formaron alrededor de los discos colocados en las placas, impregnados con los antisépticos a estudiarse, los cuales fueron medidos en milímetros con ayuda de una regla.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

Como resultado de la investigación se obtuvieron halos de inhibición con una media de 15.35 mm para los discos con clorhexidina, sin embargo, no se evidenció la presencia de halos de inhibición significativos en el disco contenido con triclosán, así como, los discos de control con agua destilada y alcohol al 70% (Imagen 11).

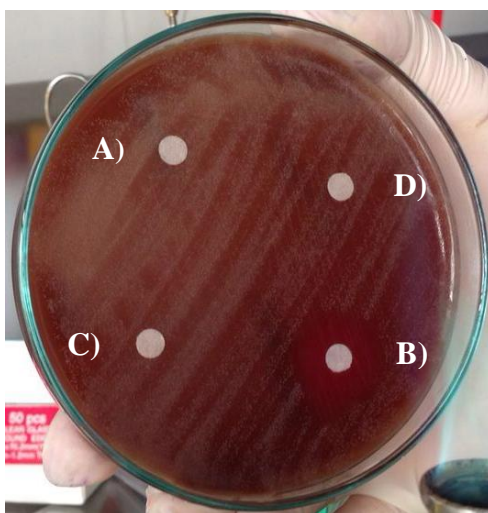


Imagen 9. Resultados de la técnica de halos de inhibición para los antisépticos triclosán y clorhexidina. (A) Triclosán 0.03%, B) Clorhexidina 0.12%, C) Etanol 70%, D) Agua Destilada). Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.

Una vez realizada la prueba de análisis de varianza no paramétrica denominada Kruskal – Wallis se obtuvo una $p < 0,0001$; lo cual señala que existe diferencia significativa entre los antisépticos utilizados en el ensayo. Además, al momento de obtener rangos de los testigos y antisépticos se pudo evidenciar que el agua destilada, etanol al 70% y el triclosán están en un mismo rango de inhibición, mientras que, la clorhexidina está en otro rango diferente denominado en la prueba como B (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de Kruskal – Wallis para el experimento

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTO	N	Medias	D.E.	Medianas	gl	C	H	p
HALO_INHIBICIÓN 1		20	6,00	0,00	6,00	3	0,58	44,44	<0,0001
HALO_INHIBICIÓN 2		20	6,00	0,00	6,00				
HALO_INHIBICIÓN 3		20	15,35	1,31	15,00				
HALO_INHIBICIÓN 4		20	6,00	0,00	6,00				

Trat.	Ranks
4	30,50 A
2	30,50 A
1	30,50 A
3	70,50 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

De igual manera se puede apreciar en el gráfico de barras (Imagen 9), que la clorhexidina arrojó los mejores resultados con respecto a los diámetros con los halos de inhibición, representada por la última columna en dicho gráfico.

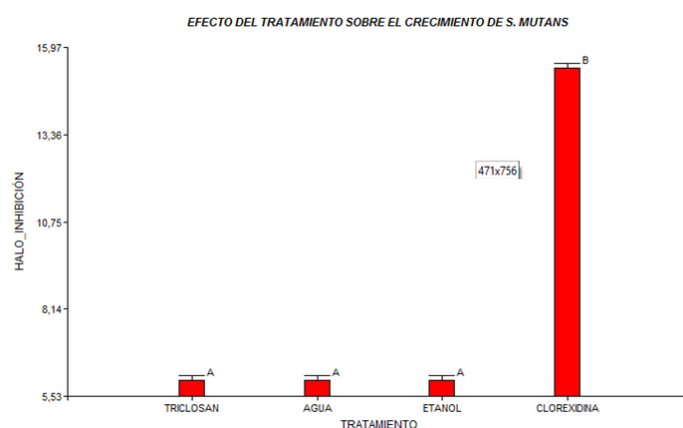


Imagen 10. Efecto del tratamiento sobre el crecimiento de S. mutans. Autor: Priscilla Peláez. Fuente: SAFEM LAB. Quito, Ecuador, 2014.

5. DISCUSIÓN

En este estudio se pudo determinar la acción antimicrobiana in vitro del triclosán y la clorhexidina, de tal manera que reduzcan la cantidad de *Streptococcus mutans* y con esto la placa bacteriana evitando la caries dental, sin embargo dado los resultados obtenidos en esta investigación, se pudo evidenciar que el *S. mutans* (ATCC 35668) no es sensible a el triclosán que obtuvo una inhibición de 6mm considerada nula ya que esta es la medida del disco de prueba, al contrario de la clorhexidina, que obtuvo una media de 15.35 mm en la inhibición del crecimiento de esta bacteria.

De tal manera que se pudo corroborar que la clorhexidina posee un efecto antimicrobiano ante el *Streptococcus mutans*, siendo este un antiséptico catiónico que actúa rompiendo la pared celular de las bacterias y produciendo desnaturalización de proteínas intracelulares de acuerdo a (Tripathi, 2008), además se ha evidenciado que altera el equilibrio osmótico de las células, adhiriendo su molécula catiónica a complejos microbianos y paredes bacterianas con carga negativa, su efecto antiplaca se ve facilitado por su capacidad de adherirse a sustratos aniónicos según lo expuesto por (Seif, 1997).

El *Streptococcus* del grupo mutans ha sido considerado por (Camejo, 1999) como el grupo bacteriano más sensible ante el efecto de la Clorhexidina a comparación de otros estreptococos que conforman la placa bacteriana, lo que puede argumentar los resultados evidenciados en esta investigación, este antiséptico está indicado principalmente en pacientes infectados con gran número de estreptococos cariogénicos, su uso se ve limitado ya que tiende a provocar tinciones y presenta sabor desagradable.

El triclosán definido por (Aguilera, 2011), como un derivado fenólico que posee propiedades antisépticas y actúa difundiendo a través de la membrana citoplasmática para inhibir la síntesis de ARN, produciendo un efecto bactericida, (Ciancio, 2010) argumentó que el principal sitio de acción del triclosán es la membrana bacteriana, provocando efectos bacteriostáticos inhibiendo la captación de aminoácidos y efectos bactericidas de manera que causa desorganización de la membrana citoplasmática además de difusión de contenido intracelular.

Según (Camejo, 1999) al determinar la sensibilidad in vitro del *Streptococcus mutans* ante tres enjuagues bucales, sanguinaria (Veadent), compuesto fenólico (Listerine) y gluconato de clorhexidina (Peridex), se demostró que el *Streptococcus mutans* fue sensible al Gluconato de clorhexidina, observando la formación de halos de inhibición alrededor de los discos impregnados con este antiséptico, en los cuales se determinó una media de 8,2 mm entre todas las muestras; difiriendo de los resultados obtenidos en este estudio de manera que la clorhexidina obtuvo una media de 15.35 mm. Sin embargo se concuerda en que la clorhexidina logra tener un efecto inhibitorio ante el *Streptococcus mutans*.

(Aguilera, 2011) demostró en su estudio la sensibilidad in vitro del *Streptococcus mutans* a los compuestos triclosán al 0.03% (Colgate Plax®), cloruro de cetilpiridinio al 0,053% (Oral B®) y clorhexidina al 0,12% (Peridont®) señalando que el triclosán tuvo mayor efectividad observándose halos de inhibición de 35mm, frente al cloruro de cetilpiridino en el que se evidenciaron halos de 3mm y gluconato de clorhexidina en el cual se obtuvieron valores de 8mm lo cual difiere con el presente estudio ya que el triclosán tuvo una actividad microbiana de 6mm (nula) mientras que la clorhexidina formó halos de 15.35 mm, siendo más sensible el *Streptococcus mutans* a este último antiséptico.

(Addy M., 1990) evaluó el efecto antiplaca (in vivo) de 15 voluntarios, utilizando triclosán, fluoruro de estaño comparadas con enjuague con clorhexidina, obteniendo un efecto similar entre el fluoruro sódico y el triclosán, y evidenciando un mayor índice de inhibición de *Streptococcus mutans* por parte de la clorhexidina 0.12%, lo cual concuerda con el presente estudio.

Se evaluó la susceptibilidad del *Streptococcus mutans* para formar o no biopelícula dentobacteriana ante clorhexidina, triclosán y fluoruro de sodio, evidenciando una resistencia de 56.7%, 78.3%, 93.3% respectivamente en cepas productoras de biopelícula, mientras que en cepas no productoras de biopelícula fueron en su totalidad sensibles a la clorhexidina, y resistentes al triclosán y fluoruro de sodio en un 5% y 12% respectivamente, podemos concluir que según los resultados en este estudio el *Streptococcus mutans* refirió una menor resistencia a la clorhexidina, concordando con (Padilla, 2007).

Dados los resultados de este estudio podemos mencionar la posibilidad de que se haya limitado las propiedades antisépticas del triclosán, debido a la absorción de proteínas dentro de los medios de cultivo, ya que la presencia de material orgánico podría tender a disminuir el efecto de los antisépticos en general, según lo mencionado por (Camejo, 1999)

Además (Serrano, 2006) afirmó que el triclosán como colutorio al 0.03% asociado a copolímeros, ha demostrado sus propiedades como agente contra la placa dental. Según (Ciancio, 2010) existe una mayor captación en el tejido adamantino y células epiteliales orales por medio de dentífricos fluorados con triclosán y copolímero PMV/MA, que utilizando únicamente al triclosán.

(Candray, 2011) mencionó que existen estrategias para mejorar el efecto bacteriostático del triclosán contra bacterias Gram positivas y negativas, combinando al antiséptico, en colutorios y dentífricos, con citrato de zinc mejorando actividad antiplaca y cálculo, unido al copolímero polivinil éter ácido maleico incrementando su sustentividad, así como combinado a pirofosfato para mejorar su reducida capacidad antiplaca. Unificando a estos productos, fluoruro de sodio al 0.24% otorgándole capacidad anticariogénica.

(Bascones, 2006) argumentó que dentro de los requisitos básicos para que los antisépticos logren su actividad antiplaca encontramos la sustentividad, cualidad que permite al antimicrobiano permanecer el tiempo necesario para inhibir o eliminar el microorganismo. Pudiendo clasificar al triclosan como agente de primera generación caracterizado por una acción de baja sustentividad, mientras que la clorhexidina presenta alta sustentividad siendo un agente de segunda generación.

CAPITULO V

6. CONCLUSIONES

La clorhexidina tuvo un efecto antimicrobiano ante el *Streptococcus mutans* ATCC 35668, ya que formo halos de inhibición con una media de 15.35 mm durante su cultivo in vitro.

El triclosán presento una inhibición de 6 mm (nula) ante el *Streptococcus mutans* ATCC 35668, por lo que se concluye que no posee un efecto antimicrobiano ante esta bacteria.

La clorhexidina obtuvo valores de inhibición ante el *Streptococcus mutans* ATCC 35668 de 15.35 mm mientras que el triclosán obtuvo una inhibición de 6mm (nula), por lo que se puede concluir que la clorhexidina es más efectiva como agente antimicrobiano y coadyuvante en la higiene bucal.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar con el presente estudio evaluando diferentes concentraciones de triclosán ante el *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).

Como recomendación en el momento de la siembra bacteriana, realizar el hisopado sin ejercer mucha presión ya que podría provocar el rompimiento del medio de cultivo.

Se recomienda comparar los antisépticos, con enjuagues que contengan el mismo porcentaje, para evaluar su eficacia inhibitoria contra el *Streptococcus mutans* (ATCC 35668).

Se recomienda realizar un nuevo estudio comparando el efecto del triclosán solo y asociado a copolímeros para determinar su acción antibacteriana.

8. BIBLIOGRAFÍA

(Aguilera, 2011). Sensibilidad del *Streptococcus mutans* a tres enjuagues bucales comerciales (Estudio in vitro). *ODOUS CIENTIFICA*. 12 (1), 7-12.

(Bascones, 2006). Antisépticos orales: revisión de la literatura y perspectiva actual. *Avances en periodoncia*, 18 (1), 31-59.

(Camejo, 1999). Sensibilidad in vitro de *Streptococcus mutans* a Sanguinaria, compuesto fenólico y Clorhexidina. *Acta Odontológica Venezolana*, 37 (2).

(Candray, 2011). *Comparación de tres pastas dentales con clorhexidina, xilitol y triclosán en la reducción de streptococcus mutans en saliva*. (Título de Doctor en Cirugía dental). Universidad de el Salvador, El Salvador, Guatemala.

(Castro, 2005). *Inhibición del crecimiento in vitro de Streptococcus mutans por papaína y Sanitrend Inhibición* (Trabajo de investigación requisito para optar al título de Cirujano-dentista). Universidad de Chile, Santiago, Chile.

(Ciancio, 2010). Investigaciones y Perspectivas en Salud Gingival. *Gingival Health Dialogue*. 1 (1), 1-4.

(Enrile, 2005). Colutorios para el control de placa y gingivitis basados en la evidencia científica. *RCOE*, 10 (4), 445-452.

(Farmacia, 2001). Colutorios, enjuagues y elixires bucales. Higiene completa. *Elsevier Ciencia y Economía*, (15), 83-91.

(Freeman, 1989). Microbiología de Burrows. DF, México: Nueva editorial interamericana 22^a edición.

(Graciano, 2012). Streptococcus mutans y caries dental en América Latina. Revisión sistemática de la literatura. *Revista Nacional de Odontología*. 8 (14).

(Gay, 2011). Tratado de cirugía bucal. Madrid, España; Ergon S.A.

(Henostroza, 2007). Caries Dental: Principios y Procedimientos para el Diagnostico. Lima, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia.

(Ketterl, 1994). Odontología conservadora: Cariología: Tratamiento mediante obturación. Barcelona, España: Masson.

(Liébana, 1995). Microbiología oral. Madrid, España: Interamericana.

(Liébana, 2008). *Estabilidad de genotipos de Streptococcus mutans en escolares usando la técnica AP-PCR y el cebador OPA-2*. (Título Doctor en Odontología). Universidad de Granada, Granada, España.

(Morante, 2003). *Valoración cruzada y a doble ciego, mediante el modelo de gingivitis experimental, de la eficacia de tres colutorios de clorhexidina sin alcohol frente a la*

prevención de gingivitis y a la neoformación de placa supragingival. (Memoria presentada para optar al grado de doctor). Universidad complutense de Madrid, Madrid, España.

(Negroni, 2009). Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

(Oliva, 2006). *Biofilm y microorganismos orales bacterianos* (Titulo de Cirujano-Dentista). Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

(Padilla, 2007). Susceptibilidad de cepas de Streptococcus mutans productores y no productores de biofilm, frente a la clorhexidina, triclosán y fluoruro de sodio utilizadas en colutorios orales. *Latinoam actual biomed*, 1 (2), 23-28.

(Perez, 2005). La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. Revista Estomatológica Herediana. Recuperado de http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1019-43552005000100016&Ing=es&nrm=iso. ISSN 1019-4355.

(Seif, 1997). Cariología: Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental. Caracas, Venezuela: Amolca.

(Serrano, 2006). *Efectos d un colutorio con Clorhexidina al 0.05% y cloruro de cetilpiridinio al 0.05% en pacientes de mantenimiento periodontal* (Memoria para optar al grado de Doctor). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

(Shafer, 1986). Tratado de patología bucal. D.F., México: Nueva editorial interamericana, S.A. de C.V. 4^a edición.

(Sieber, 2012). *Recuento de Streptococcus mutans en muestras de biofilm sobre dientes restaurados con resina compuesta oclusal versus dientes sanos mediante el método de cubeta* (Titulo de Cirujano- Dentista). Universidad de Chile, Santiago, Chile.

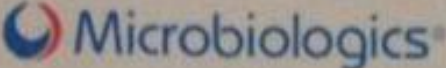
(Silverstone, 1985). Caries dental, etiología, patología y prevención. D.F., México: El manual moderno.

(Tripathi, 2008). Farmacología en Odontología: Fundamentos. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.

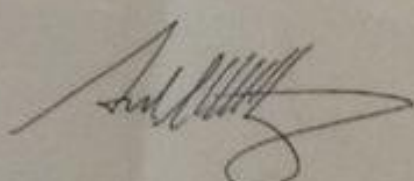
(Willey, 2009). Microbiología de Prescott, Harley y Klein. Madrid, España: McGraw-Hill / interamericana de España, S.A.

(Addy M., 1990). The effect of triclosan, stannous fluoride and clorhexidine on: (I) plaque regrowth over a 4-day period. *J Clin Periodontol*, 17 (10), 693-7.

9. ANEXOS

																																																																																										
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release																																																																																										
Specifications Microorganism Name: <i>Streptococcus mutans</i> Catalog Number: 0909 Lot Number: 969-35 Reference Number: ATCC 35668™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 2		Expiration Date: 2015/09 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2013/11/18																																																																																								
Performance Macroscopic Features: Small, circular, white to translucent. Microscopic Features: Gram positive coccid in medium or long chains.		Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)																																																																																								
Vitek GP (1) <table border="1"> <thead> <tr> <th>Phenotypic Features</th> <th>Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>D-AMYGDALIN</td><td>+</td></tr> <tr><td>PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-XYLOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 1</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>CYCLODEXTRIN</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Aspartate ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOPYRANOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-MANNOSEDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Leucine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCURONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCORONIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Alanine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td>+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>POLYMYXIN B RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-GALACTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-RIBOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td>-</td></tr> <tr><td>LACTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BACITRACIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>NOVOBIOCIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> <tr><td>GROWTH IN 6.5% NaCl</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE</td><td>+</td></tr> <tr><td>PULULAN</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-RAFFINOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td>+</td></tr> <tr><td>SALICIN</td><td>+</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>ARGININE DIHYDROLASE 2</td><td>-</td></tr> <tr><td>OPTOCHIN RESISTANCE</td><td>+</td></tr> </tbody> </table>		Phenotypic Features	Results	D-AMYGDALIN	+	PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-	D-XYLOSE	-	ARGININE DIHYDROLASE 1	-	BETA-GALACTOSIDASE	-	ALPHA-GLUCOSIDASE	+	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	CYCLODEXTRIN	-	L-Aspartate ARYLAMIDASE	-	BETA-GALACTOPYRANOSIDASE	-	ALPHA-MANNOSEDASE	-	PHOSPHATASE	-	Leucine ARYLAMIDASE	+	L-Proline ARYLAMIDASE	-	BETA-GLUCURONIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	-	BETA-GLUCORONIDASE	-	Alanine ARYLAMIDASE	+	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	D-SORBITOL	+	UREASE	-	POLYMYXIN B RESISTANCE	+	D-GALACTOSE	+	D-RIBOSE	-	L-LACTATE alkalization	-	LACTOSE	+	N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+	D-MALTOSE	+	BACITRACIN RESISTANCE	+	NOVOBIOCIN RESISTANCE	+	GROWTH IN 6.5% NaCl	-	D-MANNITOL	+	D-MANNOSE	+	METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	+	PULULAN	-	D-RAFFINOSE	+	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	SALICIN	+	SACCHAROSE/SUCROSE	+	D-TREHALOSE	+	ARGININE DIHYDROLASE 2	-	OPTOCHIN RESISTANCE	+	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative
Phenotypic Features	Results																																																																																									
D-AMYGDALIN	+																																																																																									
PHOSPHATIDYLINOSITOL PHOSPHOLIPASE C	-																																																																																									
D-XYLOSE	-																																																																																									
ARGININE DIHYDROLASE 1	-																																																																																									
BETA-GALACTOSIDASE	-																																																																																									
ALPHA-GLUCOSIDASE	+																																																																																									
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																																									
CYCLODEXTRIN	-																																																																																									
L-Aspartate ARYLAMIDASE	-																																																																																									
BETA-GALACTOPYRANOSIDASE	-																																																																																									
ALPHA-MANNOSEDASE	-																																																																																									
PHOSPHATASE	-																																																																																									
Leucine ARYLAMIDASE	+																																																																																									
L-Proline ARYLAMIDASE	-																																																																																									
BETA-GLUCURONIDASE	-																																																																																									
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																																									
L-Pyrrolidonyl-ARYLAMIDASE	-																																																																																									
BETA-GLUCORONIDASE	-																																																																																									
Alanine ARYLAMIDASE	+																																																																																									
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																									
D-SORBITOL	+																																																																																									
UREASE	-																																																																																									
POLYMYXIN B RESISTANCE	+																																																																																									
D-GALACTOSE	+																																																																																									
D-RIBOSE	-																																																																																									
L-LACTATE alkalization	-																																																																																									
LACTOSE	+																																																																																									
N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE	+																																																																																									
D-MALTOSE	+																																																																																									
BACITRACIN RESISTANCE	+																																																																																									
NOVOBIOCIN RESISTANCE	+																																																																																									
GROWTH IN 6.5% NaCl	-																																																																																									
D-MANNITOL	+																																																																																									
D-MANNOSE	+																																																																																									
METHYL-B-D-GLUCOPYRANOSIDE	+																																																																																									
PULULAN	-																																																																																									
D-RAFFINOSE	+																																																																																									
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+																																																																																									
SALICIN	+																																																																																									
SACCHAROSE/SUCROSE	+																																																																																									
D-TREHALOSE	+																																																																																									
ARGININE DIHYDROLASE 2	-																																																																																									
OPTOCHIN RESISTANCE	+																																																																																									

MEDIBAC INC. S.A.



Brad Goskowitz, President
AUTHORIZED SIGNATURE

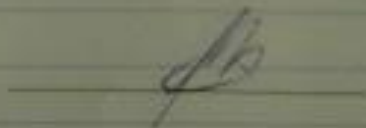
ANEXO 1 Características de la muestra biológica de *Streptococcus mutans* con referencia ATCC 35668

Quito, 9 de Septiembre de 2014

CERTIFICADO

Yo, Roberto Romero, C.I. 171433238-2 CERTIFICO que se ha cumplido con la revisión del trabajo de investigación **EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL TRICLOSAN Y CLOREXIHIDINA SOBRE EL *Streptococcus mutans* (ESTUDIO IN VITRO)**, de la estudiante Priscilla Verónica Peláez Cruz, C.I. 0702870759, en el sistema de antiplagio URKUND el 26 de agosto del presente año dando como resultado 3% de coincidencia, porcentaje que está dentro del parámetro permitido (3%) por la Unidad de Titulación.

Atentamente,



DR. Roberto Romero

C.I. 171433238-2

ANEXO 2. Informe generado por el servicio de análisis documental de Urkund.

Repetición	Etanol	H2O	Clorhexidina	Triclosan
1	6	6	15	6
2	6	6	14	6
3	6	6	15	6
4	6	6	12	6
5	6	6	15	6
6	6	6	15	6
7	6	6	14	6
8	6	6	16	6
9	6	6	14	6
10	6	6	15	6
11	6	6	17	6
12	6	6	15	6
13	6	6	16	6

	14	6	6	17	6
	15	6	6	15	6
	16	6	6	17	6
	17	6	6	15	6
	18	6	6	17	6
	19	6	6	17	6
	20	6	6	16	6
Promedio		6	6	15,35	6

ANEXOS 3. Tabla de resultados obtenidos